



CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FARMACOBOTÂNICO DE *Myrciaria trunciflora* Berg (MYRTACEAE)

Ivone Vieira Silva¹; Vanessa Noberto-Irmão²; Diene Gonçalves Larocca³; Ana Aparecida Bandini Rossi¹; Juliana de Freitas Encinas Dardengo⁴

¹Docente/ Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias/ Universidade do Estado de Mato Grosso/ UNEMAT, Alta Floresta, MT, Brasil;

²Graduanda em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas/ UNEMAT, Alta Floresta, MT, Brasil;

³Graduada em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas/ UNEMAT, Alta Floresta, MT, Brasil;

⁴Mestranda em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos/ UNEMAT, Alta Floresta, MT, Brasil. 1vibot@hotmail.com

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

RESUMO

A jabuticabeira *Myrciaria trunciflora* Berg é uma árvore da família Myrtaceae tendo como característica peculiar a presença de cavidades secretoras. A espécie em estudo tem reconhecido valor biológico, econômico e medicinal, justificando a proposta de investigação. Este trabalho teve como objetivo caracterizar anatomicamente a lâmina foliar, bem como estudar a natureza química do conteúdo das cavidades secretoras por meio da histoquímica. O material coletado foi utilizado a fresco. Folhas jovens foram seccionadas transversalmente através do micrótomo de mesa e coradas com Safranina/Azul de Astra ou submetidas às reações histoquímicas para lipídios, terpenóides, compostos fenólicos, alcalóides, glicídios e compostos protéicos. As epidermes das faces adaxial e abaxial da lâmina foliar revelaram que são uniestratificadas e recobertas por delgada camada de cutícula. Testes com Sudan indicaram substâncias lipídicas na constituição da membrana cuticular. Os tricomas são tectores, unicelulares e de parede delgada. As cavidades são delimitadas geralmente por quatro células. O conteúdo das cavidades secretoras é de natureza lipídica e terpénica. A folha é hipoestomática. O parênquima paliçádico é constituído por três estratos. No parênquima lacunoso formado, em média, por oito a dez estratos, os espaços intercelulares são volumosos. Na nervura central, os tecidos referidos são substituídos por colênquima. Numerosos e grandes cristais prismáticos podem ser observados na lâmina foliar. Na nervura central o sistema vascular é formado por um feixe disposto em arco com as extremidades levemente fletidas para o centro. O xilema acha-se envolvido pelo floema. Dois tipos celulares distintos ocupam a região periférica do feixe vascular, fibras típicas e células parenquimáticas de paredes espessadas.

PALAVRAS- CHAVE: cavidades secretoras, histoquímica, natureza lipídica, plantas medicinais.

CONTRIBUTION TO THE PHARMACOBOTANICAL STUDY OF *Myrciaria trunciflora* Berg (MYRTACEAE)

ABSTRACT

- The jabuticaba tree, *Myrciaria trunciflora* Berg. is a tree of the family Myrtaceae that has the peculiar characteristic of presence of secretory cavities. The species studied have acknowledged biological value, economic and medicinal, justifying the research proposal. This study aimed to characterize anatomically the leaf blade, well as study the chemical nature of the content of secretory cavities through the histochemistry. Was used a fresh collected material. Young leaves were sectioned transversely across the table microtome and stained with Safranin / Blue Astra or subjected to histochemical reactions for lipids, terpenoids, phenolics, alkaloids, carbohydrates and protein compounds. The epidermis of the adaxial and abaxial leaf blade reveal that single-layered and are covered by a thin layer of cuticle. Tests with sudan indicated lipid substances in the formation of cuticular membrane. The trichomes are unicellular, and has thin wall. Cavities are usually bounded by four cells. The secretory cavities content has lipidic and terpenic nature. The leaf is hypostomatic. The palisade parenchyma consists of three layers. Spongy parenchyma formed, on average, eight to ten layers, the intercellular spaces are voluminous. In the central vein, the tissues referred are replaced by chlorenchyma. Numerous and large prismatic crystals can be observed in the leaf blade. In the central vein vascular system is formed by a tract disposed in an arc with the ends deflected slightly toward the center. The xylem finds itself surrounded by phloem. Two distinctive cell types occupy the periphery of the vascular tract, typical fiber and parenchyma cells with thickened walls.

KEYWORDS: secretory cavities, histochemistry, lipidic nature, medicinal plants.

INTRODUÇÃO

Myrtaceae possui em torno de 140 gêneros e mais de 3.000 espécies, sendo a maior família de Myrtales (WATSON & DALLWITZ, 2007), e possuindo dois principais grandes centros de dispersão, nas Américas e na Austrália (JOLY, 2002). No Brasil, as espécies de Myrtaceae estão restritas à tribo Myrteae, classicamente subdividida em Myrtinae, Eugeniinae e Myrciinae (LUCAS et al., 2005; WILSON et al., 2005).

Os povos civilizados conhecem a jabuticaba *Myrciaria trunciflora* Berg (Myrtaceae), há mais de quatro séculos. Fruta nativa foi chamada pelos tupis de IAPO-TI'KABA, que quer dizer "fruta em botão", numa referência à sua forma arredondada (SOARES et al. 2001).

Myrciaria trunciflora é uma árvore de ocorrência na Argentina, Paraguai e Brasil, nos estados do Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo até o Rio Grande do Sul. É uma planta perenifólia, mesófita ou heliófita e seletiva higrófito, ocorrendo preferencialmente em planícies aluviais e matas abertas do litoral, mata pluvial atlântica e nas submatas de altitude (MARCHIORI, 1997).

Atinge cerca de 15 m de altura, com tronco geralmente reto e cilíndrico, com casca lisa de cor castanho-acinzentada, com deiscência do ritidoma em placas pequenas. As folhas maduras medem cerca de 6 a 7 cm de comprimento por 2 a 3 cm

de largura, são inteiras, lanceoladas, com ápice agudo até acuminado e base obtusa (BACKES e IRGANG, 2002).

Apresenta cauliflora, com flores brancas, hermafroditas, tetra ou pentâmeras dispostas em racemos, com múltiplas flores de pedúnculos curtos que surgem nos ramos. Os frutos são do tipo bagas globosas de cor preta contendo uma a quatro sementes (MARCHIORI, 1997).

A madeira extraída do tronco da jabuticabeira tem sido empregada na construção civil e indústria moveleira. Os frutos são apreciados pela fauna silvestre e consumidos pelo homem na forma *in natura* ou transformados em doces e licores (LORENZI, 2002). A casca é utilizada na medicina tradicional como adstringente, antiasmática, antiinflamatória das amídalas, no controle de diarreia e irritações de pele.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) 80% da população depende da medicina tradicional (SPRINGFIELD et al., 2005). No Brasil, a fitoterapia é uma opção medicamentosa que se adéqua às necessidades de vários municípios no atendimento primário à saúde. No entanto, a utilização de plantas medicinais também está ligada a um fator cultural onde as comunidades tradicionais, possuem conhecimento básico do uso de plantas medicinais e estas informações são trocadas entre os indivíduos num processo dinâmico de aquisição e perda (AMOROZO, 2002).

Segundo SILVA (2008) “para a indústria farmacêutica, a localização de metabólitos nos tecidos e/ou determinadas células vegetais torna-se um fator de elevada importância, pois auxilia na indicação da melhor parte do vegetal a ser utilizada nas terapias”. A indústria farmacêutica tem enfatizado a obtenção de padrões macro e microscópicos de drogas vegetais, resultantes do baixo custo e tempo reduzidos dos ensaios, além do alto grau de reprodutibilidade (SILVA, 2008).

Publicações acerca da anatomia foliar e histoquímica de diferentes espécies da família Myrtaceae são encontradas na literatura, no entanto com relação a *Myrciaria trunciflora* não existem relatos. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo caracterizar anatomicamente a lâmina foliar, bem como estudar a natureza química do conteúdo das cavidades secretoras por meio da histoquímica, fornecendo subsídios que possam contribuir para o conhecimento da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas folhas jovens e adultas de *Myrciaria trunciflora* Berg em cinco propriedades particulares do município de Alta Floresta. O material coletado foi utilizado a fresco para estudos histoquímicos e anatômicos. A região do terço médio das folhas foi seccionada transversalmente e longitudinalmente com o auxílio do micrótomo de mesa utilizando lâmina de barbear.

Para detecção de lipídios foi realizado um controle em que os cortes foram previamente tratados com uma mistura de metanol/clorofórmio/água/ácido clorídrico (66:33:4:1) durante três horas à temperatura ambiente.

Para detecção de lipídios totais foram realizados testes com Sudam Vermelho Escarlate (PEARSE, 1980). Os cortes foram imersos em uma solução saturada de Vermelho Escarlate ($\pm 0,3\%$) em etanol a 70% durante 15 minutos à temperatura ambiente e posteriormente feita uma lavagem rápida em etanol 70% e em água destilada.

Outro teste para detecção de lipídios totais em luz visível foi realizado com os cortes imersos no Sudam Black B (BRUNDRETT et al., 1991) a 0,1% em polietilenoglicol 400 e glicerol a 90% (v/v) durante 60 minutos à temperatura ambiente, após foi feita lavagem rápida em água destilada.

Para detecção de lipídios totais em luz ultravioleta foi usada uma solução de Vermelho Neutro a 0,1% em tampão fosfato de sódio a 0,1M e pH 6,5 durante 20 minutos, e a seguir os cortes foram lavados rapidamente em água destilada (KIRK, 1970).

Lipídios ácidos e neutros (CAIN, 1947) foram testados em solução de Sulfato Azul de Nilo durante 5 minutos a 60°C, e em seguida tratados em ácido acético a 1% durante 1 minuto a 60°C e após os cortes foram lavados em água destilada.

Para detectar lipídios insaturados (GANTER E JOLLÉS, 1969) os cortes foram imersos em solução de Tetroxido Ósmio a 1% durante uma hora em capela de exaustão, e posteriormente lavados em água destilada.

Para a caracterização de ácidos graxos os cortes foram imersos em solução de acetato de cobre a 0,05% durante 3 horas, e em seguida em uma solução de Na₂EDTA a 0,01% em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,1 durante 5 minutos, foi feita uma lavagem em água durante 10 minutos, e posteriormente foram colocados em ácido rubeânico a 0,1% em etanol a 70 % (recém preparado) durante 30 minutos, e em seguida lavagem rápida em água (GANTER e JOLLÉS, 1970).

Compostos terpênicos, como óleos essenciais e oleoresinas foram identificados através do Reagente de NADI (recém preparado) durante uma hora à temperatura ambiente no escuro, sendo feita em seguida uma lavagem em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 durante 2 minutos (DAVID e CARDE, 1964).

Para a caracterização de Esteróides foi feito um controle com os cortes previamente tratados com Tetrahidreto Boreto de Sódio a 1% (recém preparado) durante 10 minutos e lavados em água por três vezes por quinze minutos em cada lavagem. Os cortes para a detecção foram imersos em Solução Tricloreto de Antimônio em Ácido Perclórico a 60% à temperatura ambiente (HARDMAN e SOFOWORA, 1972; MACE et al., 1974). Os cortes foram montados diretamente em lâminas escavadas, sendo a observação foi feita após 5 minutos.

Para detecção das Lactonas Sesquiterpênicas (GEISSMEN e GRIFFIN, 1971), os cortes foram colocados diretamente em Ácido Sulfúrico em lâminas escavadas e observados imediatamente.

Compostos fenólicos foram detectados através do teste de Cloreto de Ferro III (JOHANSEN, 1940). Os cortes foram imersos na solução de cloreto de ferro III a 10% durante 15 minutos e em seguida lavados em água destilada.

Outro teste para detecção de compostos fenólicos realizado baseia-se na imersão dos cortes em solução de Dicromato de Potássio a 10 % durante 15 minutos e posteriormente lavagem rápida em água destilada (GABE, 1968).

A observação de compostos fenólicos em luz ultravioleta foi feita através da imersão dos cortes em fluorocromos descritos a seguir: solução de Cloreto de Alumínio (5-15%), Acetato de Magnésio (5%), Acetato Neutro de Chumbo (1-3%) e Reagente de Wilson durante 15 minutos, e em seguida lavagem rápida em água destilada.

Os taninos foram detectados pela imersão dos cortes montados diretamente na lâmina em solução de Vanilina a 0,5% em Ácido Clorídrico a 9% durante 10 minutos. (MACE e HOWELL, 1974)

Para detectar ligninas os cortes foram mergulhados em solução de floroglucinol em HCL a 20% durante 1 minuto (JOHANSEN, 1940).

Os alcalóides foram testados utilizando Reagente de Dragendorff (SVENDSEN e VERPOORTE, 1983), de Wagner, de Dittmar e Reagente de Ellram (FURR e MAHLBERG, 1981). Os cortes foram imersos por 10 minutos em cada reagente e em seguida lavados em água destilada. O controle de cada teste foi feito com cortes previamente tratados com Ácido Tartárico a 5% em Etanol a 95% durante 48 horas. Decorrido este tempo os cortes foram colocados nos reagentes específicos por 10 minutos e posteriormente lavados em Nitrito de Sódio a 5 % e em água destilada.

Para detecção de polissacarídeos gerais os cortes foram colocados em Tetrahidreto Boreto de Sódio a 1% (recém preparado) por 30 minutos, ácido periódico a 1% durante 10 minutos, e lavados em água destilada. Em seguida colocados no Reagente de Schiff por 15 minutos, posteriormente lavados em Metabissulfito de Sódio em três etapas de dois minutos cada, e em seguida lavados em água destilada. Para o controle repetiu-se o procedimento anterior omitiu-se o tratamento com Ácido Periódico.

O Amido foi detectado colocando os cortes em solução de lugol (solução de iodo a 0,5% adicionada de iodeto de potássio a 1 % durante 10 minutos, e em seguida lavados em água destilada (JENSEN, 1962).

O reagente Vermelho de Rutênio (JOHANSEN, 1940) foi utilizado para detectar pectinas. Os cortes foram imersos em solução de Vermelho de Rutênio a 1000 ppm durante 10 minutos, e em seguida lavados em água destilada.

Os mucopolissacarídeos foram detectados colocando os cortes em solução de Azul de Alciano (PEARSE, 1980), 8 GX a 1% em ácido acético a 3% a pH 2,5 durante 30 minutos , e em seguida lavados em água durante 5 minutos.

Para detecção de mucilagens os cortes histológicos foram imersos em Ácido Tânico a 5% por 10 minutos e em seguida lavados em água destilada, e posteriormente colocados em solução de cloreto de ferro III a 3 % durante 1 minuto, e novamente feita uma lavagem rápida em água destilada (PIZZOLATO e LILLIE, 1973). O controle foi feito com cortes tratados apenas com solução de Cloreto de Ferro III.

As proteínas totais foram testadas colocando-se os cortes em solução de Azul de Bromofenol a 0,1% em Etanol a 95% adicionado de Cloreto de Mercúrio (10%) durante 10 minutos. Em seguida os cortes foram imersos em ácido acético a 0,5% por três etapas de cinco minutos cada, e posteriormente foi feita uma rápida lavagem em água destilada e em Tampão Fosfato de Sódio 0,1 M pH 7,0 durante 3 minutos (MAZIA et al., 1953).

As ilustrações foram obtidas por meio do capturador de imagens, acoplado ao fotomicroscópio Leica DMLB, com o auxílio do programa Leica IM50 no laboratório de Biologia Vegetal/UNEMAT/AF. Pranchas foram montadas para evidenciar padrões gerais anatômicos da espécie e buscaram realçar os resultados dos testes histoquímicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo CZELUSNIAK et al., (2012) a fitoterapia foi um dos primeiros recursos terapêuticos utilizados pelos povos, além de ser por muito tempo a única terapia disponível ao homem. Então este tipo de tratamento utilizado através dos anos e até mesmo décadas, é caracterizado pela utilização de plantas medicinais nas diferentes formas farmacêuticas (CZELUSNIAK et al., 2012; PONZI et al., 2010). Entre estas podemos evidenciar *Myrciaria trunciflora* espécie foco deste estudo.

As epidermes das faces adaxial e abaxial da lâmina foliar de *M. trunciflora* em secção transversal revelam que são uniestratificadas e recobertas por delgada camada de cutícula (Figs. 5 e 6) e estratos cuticulares, que constituem flanges conspícuas no bordo e sobre a nervura central.

Testes com Sudan escarlata e Sudam Black B indicaram substâncias lipídicas na constituição da membrana cuticular e propiciaram melhor visualização dos flanges cuticulares. A cutícula reagiu positivamente ao vermelho neutro que sob luz ultravioleta mostrou regiões refringentes e outras não refringentes (Fig. 11).

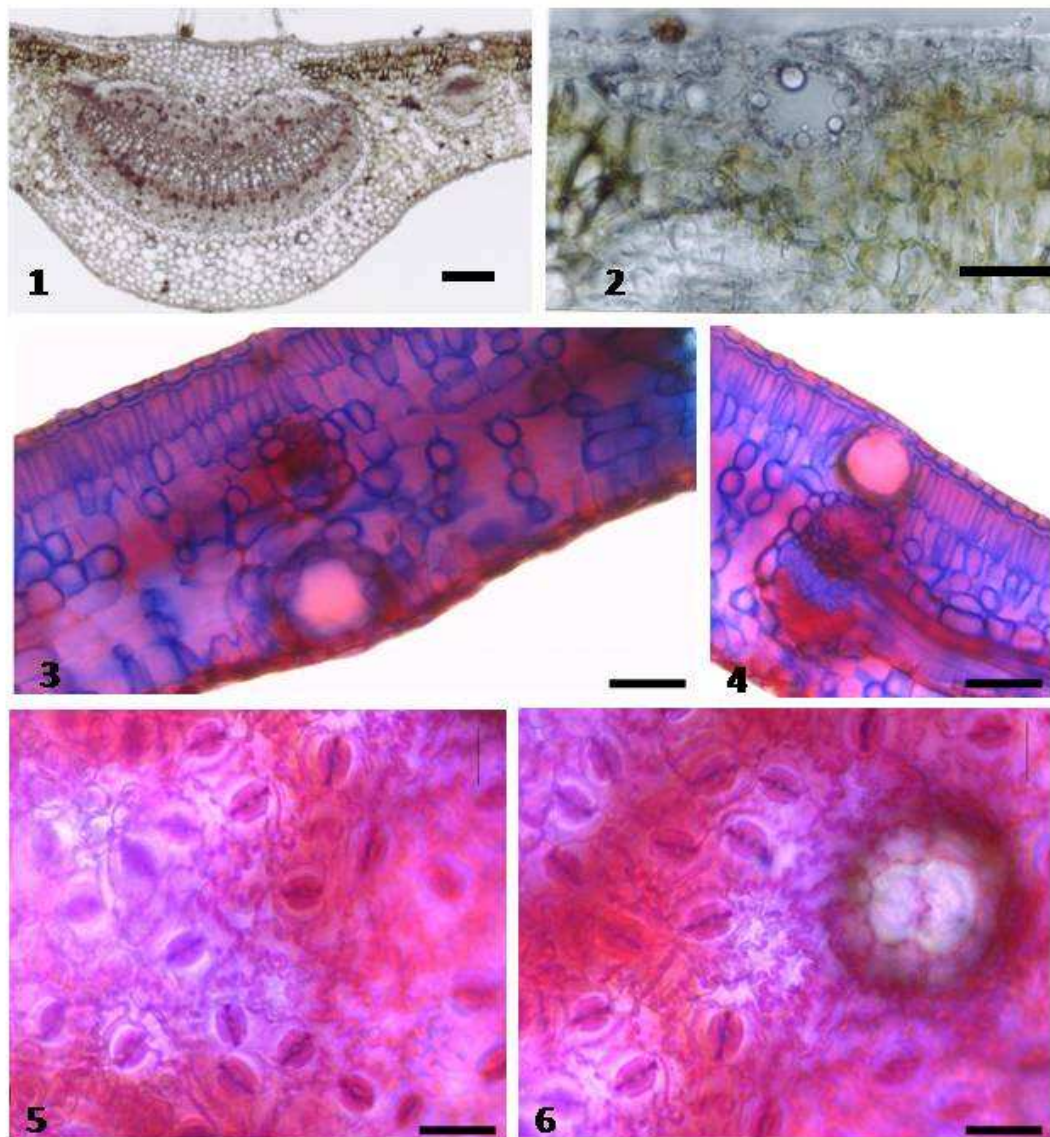
As folhas adultas apresentam cicatrizes deixadas pela queda de tricomas tectores, sendo estes facilmente observados em folhas jovens na nervura central. Os tricomas são unicelulares e de parede delgada (Fig. 1) corroborando METCALFE e CHALK (1950) para estudos com espécies de Myrtaceae. A epiderme unisseriada e tricomas unicelulares são características anatômicas que ocorrem em Myrtaceae (METCALFE e CHALK, 1979, GOMES et al., 2009) e que foram também constatadas na espécie estudadas.

M. trunciflora possui cavidades secretoras, cujas células epidérmicas do entorno apresentam projeções na parede celular. Em torno dessas células as demais epidérmicas podem dispor-se radialmente. O número de células que recobrem as cavidades secretoras, bem como o aspecto da parede que as separa têm se mostrado bastante variável entre as diversas espécies de Myrtaceae estudadas até o momento (METCALFE e CHALK, 1950; GOMES et al., 2009).

As cavidades secretoras de *M. cauliflora* são circulares, de tamanho variável ocorrem na epiderme de ambas às faces da folha e são contornadas por células cujas paredes adjacentes ao mesofilo podem suberizar-se (Figs. 2 e 4). Em secção transversal, as cavidades são delimitadas por três a quatro células de conteúdo denso e coloração castanho-escuro no material a fresco (Fig. 2). O mesmo caráter é mencionado para outras espécies de Myrtaceae, como *Psidium cattleianum* (ARRUDA e FONTENELLE, 1994).

Conforme ESAU (1976) estruturas específicas presentes em plantas como células secretoras canais e/ou cavidades secretoras são úteis para fins de diagnósticos em estudos taxonômicos. Segundo CUTTER (1986) as células de secreção aparecem em diferentes partes da planta e tipos particulares de estruturas de secreção são, as vezes, características de certas famílias. Como exemplo, Lauraceae, Myrtaceae, Caprifoliaceae e Rutaceae apresentam como característica marcante células secretoras com conteúdo oleoso (ESAU, 1976; CASTRO et al., 2009). DONATO et al. (2011) em seu trabalho retrata que a família Myrtaceae, caracteristicamente, é produtora de óleos essenciais, apresentando ainda o gênero *Myrcia* com espécies hipoglicemiantes. Neste aspecto a identificação da parte com potencial medicamentoso

pode colaborar na redução do tempo entre pesquisa, produção e produto final a ser consumido (SILVA, 2008).



FIGURAS 1 a 6- Secções transversais e paradérmicas da lâmina foliar de *Myrciaria trunciflora*. 1- Região da nervura mediana evidenciando sistema vascular envolvido por fibras, colênquima, cristais prismáticos e cavidade secretora. 2- Detalhe da cavidade secretora com células do epitélio e secretado no lúmen. 3- Detalhe do mesofilo dorsiventral. 4- Detalhe do feixe vascular colateral. 5- Células epidérmicas abaxiais com paredes sinuosas. 6- Epiderme abaxial com detalhe de cavidade secretora. Barra = 120 μm (1); 50 μm (2, 5, 6); 80 μm (3, 4). Obs. Figs. 3 a 6 cortes corados com Safrablau.

O conteúdo das cavidades secretoras é de natureza lipídica, sendo evidenciado nos testes realizados com reagente Sudan escarlate e Sudan Black B (Figs. 7 a 10) corroborando estudos de DONATO et al. (2011). Estudos ontogenéticos estabeleceram a origem das glândulas oleíferas em Myrtaceae a partir de meristemóides epidérmicos (FAHN, 1979) ou células protodérmicas (ARRUDA e FONTENELLE, 1994), inequivocadamente sem a participação de meristema fundamental. Os sudões são corantes lisocromos usados na detecção geral de lipídios por um processo físico em que ocorre partilha entre os lipídios e os solventes do lisocromo. As moléculas do lisocromo tem maior afinidade com os lipídios do que para os solventes onde estão dissolvidos. Só os lipídios em fase líquida na temperatura ambiente são capazes de dissolver o lisocromo, pelo que é impossível por este método detectar lipídios na fase cristalina.

Ainda comprovando a natureza lipídica das cavidades secretoras o teste realizado com o vermelho neutro induziu uma fluorescência amarelo esverdeada nos compostos lipídicos em luz ultravioleta (Fig. 11).

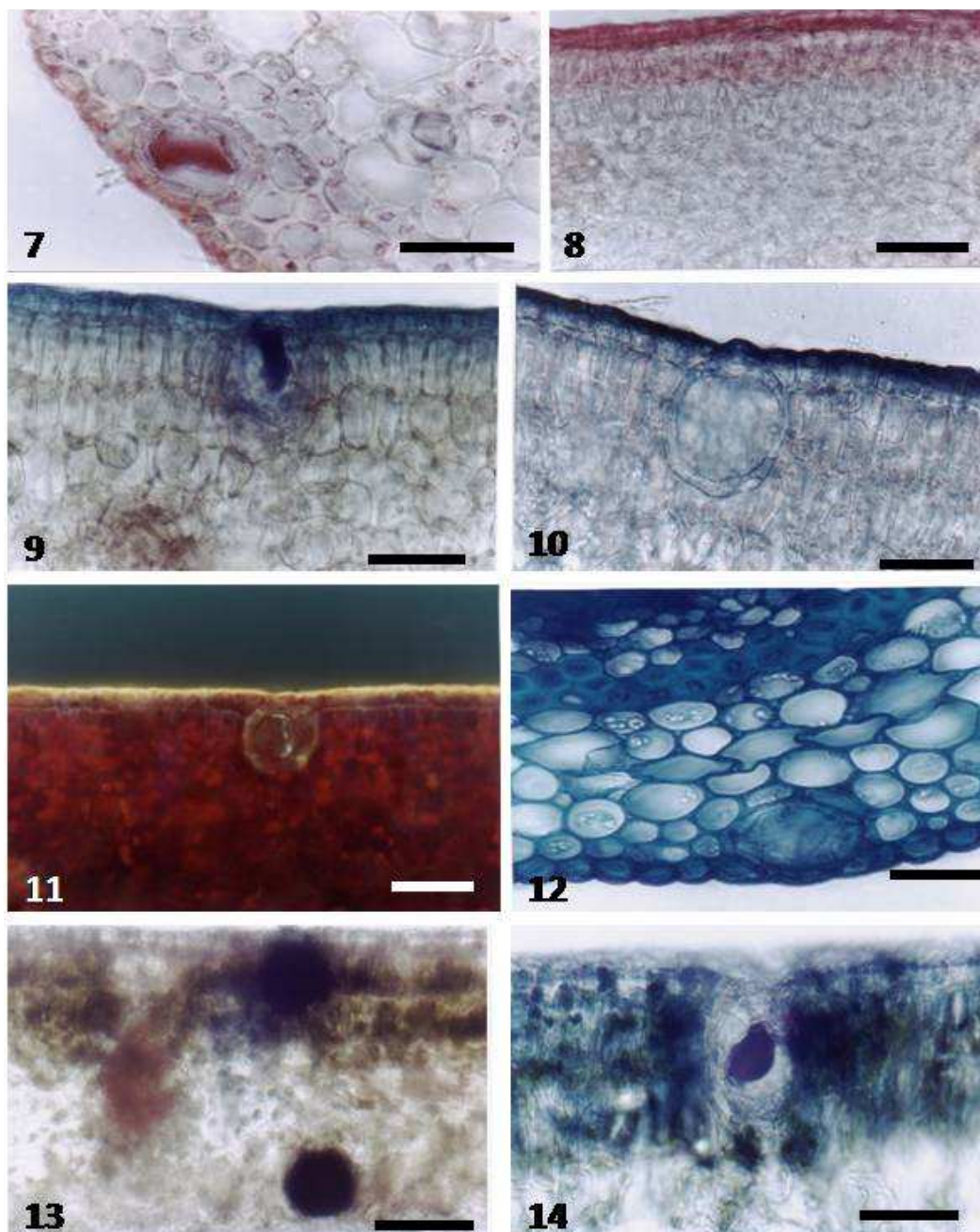
Dentre os lipídios totais é possível identificar os ácidos e os neutros com utilização do corante Sulfato Azul do Nilo. Com a utilização deste teste ficou evidenciado os compostos lipídicos ácidos no conteúdo secretado, bem como nas células do epitélio de *M. trunciflora* (Fig. 12).

Lipídios insaturados também foram identificados no secretado e células epiteliais apresentando coloração negra na presença do Tetróxido de Ósmio (Fig. 13). Na presença de lipídios com dupla ligação (C=C), o Tetróxido de Ósmio é reduzido formando um composto negro.

Os testes de Wagner e Dittmar, empregados na detecção de alcalóides, revelaram reações não específicas, provavelmente em função destas duplas ligações. Ocorreram colorações negras tanto no secretado como nas células epiteliais em vez de castanho avermelhado como comum na positividade deste teste (Fig. 24).

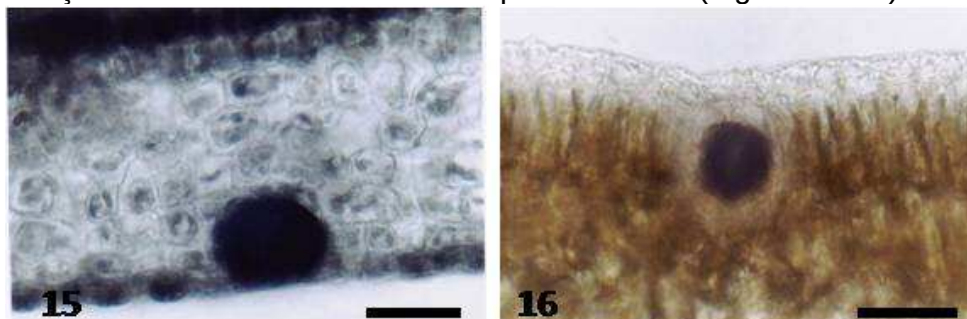
A natureza lipídica das cavidades secretoras são citadas por METCALFE e CHALK (1950) para a família Myrtaceae.

Além da constituição lipídica observou-se a presença de óleos essenciais e oleoresinas (terpenóides) através do reagente de NADI. Este reagente é uma mistura de dois componentes incolores, o α -Naftol e o Cloridrato de Dimetilparafenileno Diamina que alteram a cor por variação do pH, permitindo uma coloração diferencial de essências de ácidos resínicos. Os cortes histológicos submetidos a este reagente apresentaram coloração violeta no conteúdo da cavidade, indicando a predominância de óleos essenciais sobre as oleoresinas (Fig. 15).



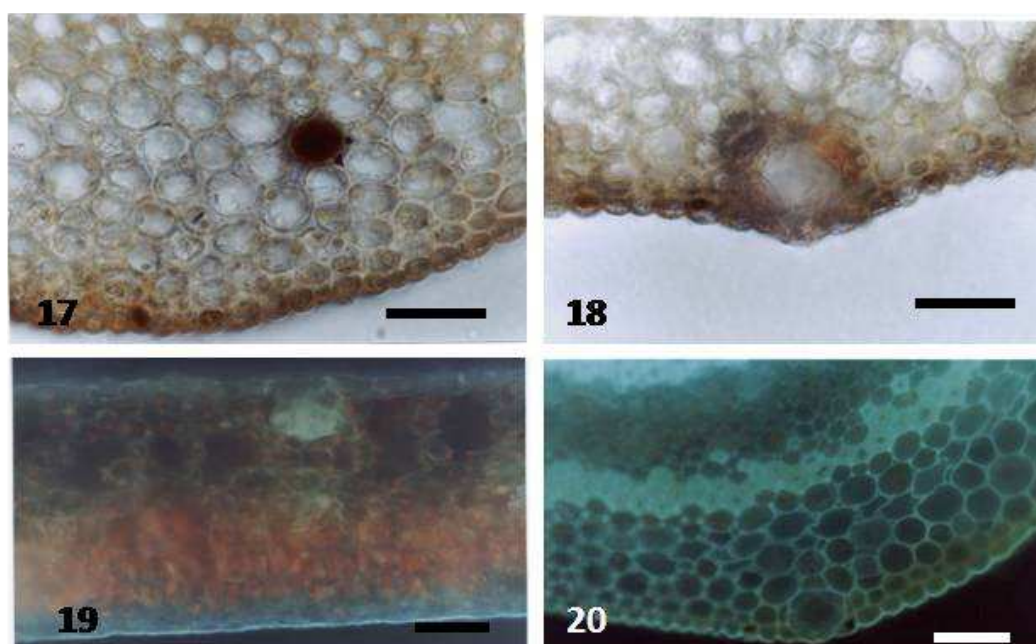
FIGURAS 7 a 14 – Secções transversais da lâmina foliar de *Myrciaria trunciflora* evidenciando cavidades secretoras e secretados no lúmen. Natureza lipídica do secretado evidenciada com: 7- Sudam Vermelho Escarlata. 8- Controle do teste. 9- Sudam Black B. 10- Controle do teste. 11- Natureza lipídica do secretado e da cutícula evidenciada com Vermelho Neutro em luz ultravioleta. 12- Compostos lipídicos ácidos detectados no secretado e nas células do epitélio com Sulfato Azul do Nilo. 13- Presença de lipídios insaturados detectados no secretado e nas células do epitélio com Tetróxido de Ósmio. 14- Reagente de NADH indicando a predominância de óleos essenciais no secretado. Barra = 50 μm

Os testes realizados com os reagentes Acetato de Cobre/Ácido Rubeânico (detecção de ácidos graxos) e Lugol (detecção de amido) mostraram-se inespecíficos, pois a coloração resultante não é a indicada pela literatura (Figs. 15 e 16).

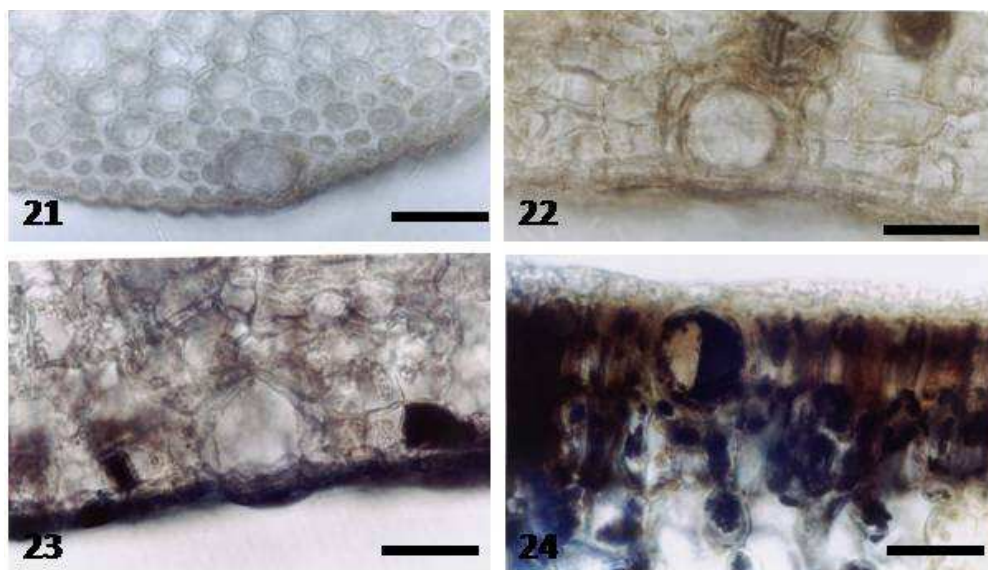


FIGURAS 15 e 16- Reações inespecíficas na cavidade secretora detectadas com os reagentes: 15- Acetato de Cobre/Ácido Rubeânico. 16- Lugol. Barra = 50 µm

Os secretados das cavidades e células epiteliais não apresentam esteróides, lactonas sesquiterpênicas, compostos fenólicos, alcalóides, glicídios e proteínas nas suas constituições (Figs. 16 e 18 a 30).



FIGURAS 17 a 20 - Secções transversais da lâmina foliar de *Myrciaria trunciflora*, destacando a presença de cavidades secretoras. 17 – Presença de compostos fenólicos em células da região do colênquima evidenciada com Cloreto de Ferro III. 18 - Dicromato de Potássio. 19 - Branco em luz ultravioleta. 20 - Fluorocromo Cloreto de Alumínio em luz ultravioleta, indicando em 18, 19, 20 a ausência de compostos fenólicos no secretado. Barra = 50 µm



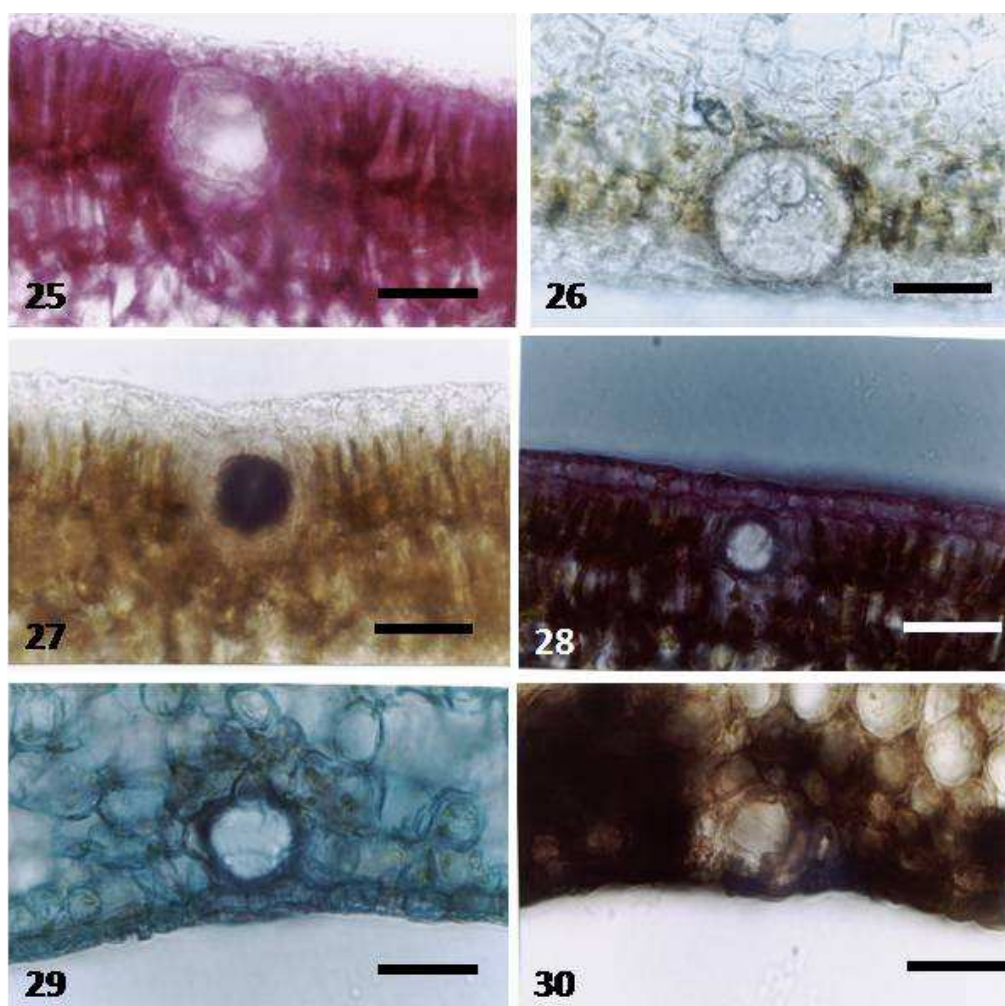
FIGURAS 21 a 24 - Secções transversais da lâmina foliar de *Myrciaria trunciflora* destacando a presença de cavidades secretoras. 21- Vanilina Clorídrica indicando reação negativa para presença de taninos. 22- Floruglucinol em luz visível indicando reação negativa para presença de lignina. 23- Reagente de Wagner e 24- Reagente de Dittmar revelam reações não específicas para detecção de alcalóides. Barra = 50 µm.

A folha é hipoestomática. Os estômatos distribuem-se ao acaso, isolados ou aos pares, por toda a superfície abaxial, ausentes sobre a nervura central e áreas adjacentes às células que recobrem as cavidades secretoras (Fig. 6). A ocorrência de estômatos somente na face abaxial é apontada para algumas espécies de Myrtaceae (BANDULSKA, 1930; VAN VYK et al., 1982; MACHADO et al., 1988; GOMES et al. 2009).

A secção transversal mediana do aparelho estomático de *M. trunciflora* revela que as células estomáticas situam-se ao mesmo nível das demais epidérmicas, enquanto as subsidiárias localizam-se parcialmente abaixo das primeiras (Fig. 6). As paredes periclinais são extremamente espessadas e o lumem é reduzido nesta região. Diferentes tipos de complexos estomáticos têm sido atribuídos a espécies de Myrtaceae, que geralmente apresentam células-guarda no nível da epiderme (GOMES et al., 2009. Segundo ARRUDA e FONTENELLE (1994), a família não apresenta um tipo estomático característico e geralmente as células-guarda situam-se no mesmo nível das células epidérmicas comuns, com as subsidiárias muitas vezes posicionadas parcialmente abaixo das primeiras. Isto dificulta a identificação do tipo de complexo estomático em cortes paradérmicos, gerando a impressão da falta de células subsidiárias, ou dificultando sua distinção em relação às células comuns. Tal dificuldade explicaria controvérsias na literatura sobre os tipos estomáticos encontrados na mesma espécie.

O parênquima paliçádico é constituído geralmente por três estratos voltado para a face adaxial caracterizando, assim, uma estrutura dorsiventral. Interrompendo as

células da paliçada encontram-se as cavidades secretoras subepidérmicas descritas anteriormente (Figs. 1, 2 e 4). No parênquima lacunoso formado, em média, por oito a dez estratos, os espaços intercelulares são relativamente volumosos. (Figs. 1 e 4). Na nervura central, os tecidos referidos são substituídos por colênquima (Figs. 1 e 17). Numerosos e grandes cristais prismáticos em luz polarizada podem ser observados nesta região (Figs. 1 e 6) e menores ocorrem no mesofilo. Tais informações corroboram com as de SOLEREDER (1908), METCALFE e CHALK (1905) e FERRI (1971) para a família.



FIGURAS 25 a 30. Secções transversais da lâmina foliar de *Myrciaria trunciflora* destacando a presença de cavidades secretoras. 25- Ácido Periódico/ Reagente de Schiff e 26- Controle do teste. 27- Reação negativa com Tricloreto de Antimônio para presença de esteróides no secretado. 28- Reação negativa com Vermelho de Rutênio indicando ausência de pectina nas cavidades secretoras. 29- Reação negativa com Azul de Alciano comprovando a ausência de mucopolissacarídeos ácidos nas cavidades secretoras. 30- Reação negativa com Ácido Tânico/ Cloreto de Ferro III indicando que o conteúdo das cavidades secretoras não se trata de mucilagens. Barra = 50 μm.

Na nervura central o sistema vascular é formado por um feixe disposto em arco com as extremidades levemente fletidas para o centro. O xilema acha-se envolvido pelo floema (Figs. 1 e 3). Para KEATING (1982) as Myrtaceae apresentam geralmente nervura central não proeminente, sendo formado por um único feixe adaxialmente fendido e abaxialmente arredondado.

Dois tipos celulares distintos ocupam a região periférica do feixe vascular. O primeiro tipo é constituído por fibras típicas, lignificadas, coradas de vermelho através do teste com o reagente Floroglucinol. O segundo tipo é constituído de células parenquimáticas de paredes espessadas e de natureza celulósica (Fig. 3).

Diferentes autores fazem referências à presença de tecidos mecânicos nas proximidades dos feixes vasculares para distintas espécies de Myrtaceae (METCALFE & CHALK, 1950; KEATING, 1982). BACKES (1971) registra a ocorrência de colênquima circundando a nervura central de *P. multiflorum* o mesmo ocorrendo nesta espécie como citado anteriormente. Pode-se observar através de testes para detecção de compostos fenólicos a presença de células que reagiram positivamente na região do colênquima (Fig. 17). Todos os feixes do mesofilo acham-se envolvidos por bainha parenquimática.

Muitas espécies da família Myrtaceae apresentam canais secretores nos órgãos vegetativos. O material secretado tem reconhecido valor biológico, econômico e medicinal, justificando a proposta de investigações que caracterizem a morfologia da estrutura secretora e a composição química do exsudato de *M. trunciflora*, mostrando que as cavidades que são delimitadas geralmente por quatro células apresentam conteúdo de natureza lipídica e terpênica.

REFERÊNCIAS

AMOROZO, M.C.M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antonio do Leveger, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.16, n.2, p.189-203, 2002.

ARRUDA, R.C.O. & FONTENELLE, G.B. Contribuição ao estudo da anatomia foliar de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.17, n.1, p.25- 35, 1994.

BACKES, A. Contribuição ao estudo da anatomia foliar da fisiologia de *Psidium multiflorum* Camb. **Ciência e Cultura**, v.23, p.297- 303, 1971.

BACKES, P. & IRGANG, B. **Árvores do Sul**: guia de identificação e interesse ecológico. Porto Alegre: Pallotti. 2002.

BANDUSKA, H. On the cuticles of recent and fóssil de Myrtaceae. **Linn. Journal of Botany**, v.48, p.657-761. 1930.

BRUNDRETT, M.C.; KENDRICK, B. & PETERSON C.A. Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B or Fluoral Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. **Biotech & Histochem**, v.66, p.111-116, 1991.

CAIN, A.J. The use of Nile Blue in the examination of lipids. **Quarter. J. Microsc. Sci.**, v.88, p.383-392, 1947.

CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J. & PAIVA, R. 2009. Histologia Vegetal: Estrutura e função de órgãos vegetativos. UFLA. Lavras – MG. 2009.

CLARK G. 1981. Staining procedures. Williams & Wilkins, Baltimore. 1981.

CUTTER, E.G. 1986. **Anatomia Vegetal**. Parte I: Células e tecidos. 2ª Ed. Rocca. São Paulo-SP. 1986.

CZELUSNIAK, K.E.; BROCCO, A.; PEREIRA, D.F. & FREITAS, G.B.L. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.2, p.400-409, 2012.

DAVID, R. & CARDE, J.P. Coloration differentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du reactif Nadi. **C. R. Acad. Sci.**, v.258, p.1338-1340, 1964.

DONATO, A.M. & MORRETES, B.L. Morfo-anatomia foliar de *Myrcia multiflora* (Lam.) DC. – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.13, n.1, p.43-51, 2011.

ESAU, K. 1976. **Anatomia das plantas com sementes**. Edgard Blucher LTDA. São Paulo-SP. 293p. 1976.

FAHN, A. 1979. **Secretory tissues in plants**. London, Academic Press. 1979.

FERRI, N.G. Informações sobre a transpiração e anatomia foliar de diversas espécies de Myrtaceae. **Ciência e Cultura**, v.23, p.313-316, 1971.

FURR, M. & MAHLBERG P.G. Histochemical analcyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **J. Nat. Prod**, v.44, p.153 -159, 1981.

GABE, M. 1968. Techniques histologiques. Masson & Cie, Paris. 1968.

GANTER, P. & JOLLÉS, G. 1969. **Histochimie normale et pathologique**. Paris: Gauthier – Villars, 1969.

GEISSAMN, T.A & GRIFFIN, T.S. Sesquiterpene lactones: Acid- catalyzed color reactions as na aid in structure determination. **Phytochemistry**, v.10, p.2475-2485, 1971.

GOMES, S.M.; SOMAVILLA, N.S.D.N.; GOMES-BEZERRA, K.M.; MIRANDA, S.C.; DE-CARVALHO, P.S. & GRACIANO-RIBEIRO, D. Anatomia foliar de espécies de

Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. **Acta Botanica Brasilica**, v.23, n.1, p.223-238, 2009.

HARDMAN, R. & SOFOWORA, E.A. 1972. Antimony trichloride as test reagents for steroids, especially diosgenin and yamogenin, in plant tissues. **Stain Technology**, v.47, p.205-208, 1972.

JENSEN, W.A. 1962. Botanical histochemistry. WH Freeman and Co, San Francisco. 1962.

JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. Mc Graw - Hill, New york. 1940.

JOLY, A.B. 2002. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Companhia Editora Nacional. 2002.

KEATING, R.C. Leaf histology and its contribution to the relation ships in the Myrtales. **Ann. Missori Bot. Gard.**, v.71, p.801-823, 1982.

KIRK, JR.P.W. Neutral red as a lipid fluorochrome. **Stain Technology**, v.45, p.1-4, 1970.

LORENZI, H. 2002. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4^o ed. Nova Odessa, -SP: Instituto Plantarum. 2002.

LUCAS, E.J.; BELSHAM, S.R.; NICLUGHADHA, E.M.; ORLOVICH, D.A.; SAKURAGUI, C.M.; CHASE, M.W. & WILSON, P.G. Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae- preliminary molecular evidence. **Plant Systematics and Evolution**, v.251, p.35-51, 2005.

MACE, M.E., & HOWELL, C.R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Canadian Journal of Botany**, v.52, p.2423-2426, 1974.

MACHADO, R.D.; COSTA, C.C. & FONTENELLE. G.B. 1988. Anatomia foliar de *Eugenia sulcata* Spring. ex. Mart. (Myrtaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.1, n.2, p.275-285, 1988.

MARCHIORI, J.N.C. & SOBRAL, M. 1997. **Dendrologia das angiospermas**: Myrtales. Ed. da UFSM. Santa Maria. 1997.

MAZIA, D., BREWER, P.A & ALFERT, M. The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. **Biol. Bull.**, v.104, p.57-67, 1953.

METCALFE, C.R. & CHALK, R. 1950. **Myrtaceae**. In Anatomy of the Dicotyledons. Clarendon Press. Oxford. 1950.

PEARSE, A.G.E. 1980. Histochemistry theoretical and applied. Vol.II, 4 ed. Longman Group Limited. 1980.

PIZZOLATO, T.D. & LILLIE, R.D. Mayer's tannic acid ferric chloride stain for mucins. **Journal Histochem Cytochem**, v.21, p.56-64, 1973.

PONZI, E.A.C.; OLIVEIRA, T.L.; MORAIS, I.A.F.; SILVA JÚNIOR, J.J.; GERBI, M.M.; SOUZA, I.A.; PSIOTTANO, M.N.C. & XAVIER, H.S. 2010. Atividade antimicrobiana do extrato de *Momordica charantia* L. **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-fac.**, v.10, n.1, p.89-94, 2010.

SILVA, M.D. 2008. Estudo Farmacobotânico de três espécies medicinais da caatinga em Pernambuco. Dissertação (Mestrado em Botânica). Departamento de Biologia Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE. 2008.

SOARES, N.B., POMMER, C.V., SARMENTO, B.M.M., RIBEIRO, I.J.A., JUNG-MENDAÇOLLI, S., ARAÚJO, A.P. & PEREIRA, R.A. 2001. **Jaboticaba**: instruções de cultivo. Cinco continentes, Porto Alegre, RS. 2001.

SOLEREDER, H. 1908. **Myrtaceae**. In systematic anatomy of the dicotyledons. Clarendon Press. Oxford. p.919-920. 1908.

SPRINGFIELD, E.P.; EAGLES, P.K.F. & SCOTT, G. Quality assessment of South African herbal medicines by means of HPLC fingerprinting. **Journal Ethnopharmacol**, v.101, p.75-83, 2005.

SVENDSEN, A.B. & VERPOORTE, R. 1983. Chromatography of alkaloids. Elsevier Scientific Publishing Company, New York. 1983.

WATSON, L. & DALLWITZ, M.J. 2007. **The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval**. <http://delta-intkey.com> Version: 1st June. 2007.

WILSON, P.G.; O'BRIEN, M.M.; HESLEWOOD, M.M. & QUINN, C.J. Relationships within Myrtaceae *sensu lato* based on a matK phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**, v.251, p.3-19, 2005.

VAN VYK, A.E., ROBERTSE, P.J. & KOK, P.D.F. The genus *Eugenia* L. (Myrtaceae) in Southern Africa: the structure and taxonomic value of stomata. **J. Linn. Soc.**, v.84, p.41-56, 1982.